

### **III. MATERI DAN METODE**

#### **3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Pembuatan silase dilakukan di Laboratorium Agrostologi, Industri Pakan dan Ilmu Tanah, kemudian dilanjutkan dengan analisis proksimat di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Kimia Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan November 2014.

#### **3.2. Bahan dan Alat Penelitian**

##### **3.2.1. Bahan**

Bahan yang digunakan adalah pelepah kelapa sawit yang terdapat di Kelurahan Rejosari, Kecamatan Tenayan Raya, Kota Pekanbaru dan leguminosa pohon *Indigofera zollingeriana* (Indigofera) berasal dari kebun percobaan Laboratorium Agrostologi, Industri Pakan dan Ilmu Tanah UIN Suska Riau serta molases sebagai aditif. Bahan untuk analisis proksimat adalah *aquadest*, HCl, K<sub>3</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NaOH, H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>, *eter*, *benzena*, CCl<sub>4</sub> dan ditambah dengan pelarut.

##### **3.2.2. Alat**

Alat yang digunakan untuk proses pembuatan silase adalah mesin pencacah (*chopper*), kantong plastik, tali pengikat, timbangan, baskom dan sendok pengaduk serta alat tulis. Alat untuk analisis proksimat adalah pemanas, *kjeltec*, *soxtec*, *fibertec*, gelas piala 300 mL, pipet gondok, kertas saring, tanur listrik, tang *crusible* dan alat *destilasi* lengkap dengan *erlenmeyer*.

### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 4 ulangan.

Perlakuan terdiri dari:

- (1) 100% pelepah kelapa sawit (PKS) + 0% *Indigofera zollingeriana* (Iz) + 5% molases.
- (2) 0% pelepah kelapa sawit (PKS) + 100% *Indigofera zollingeriana* (Iz) + 5% molases.
- (3) 100% pelepah kelapa sawit (PKS) + 20% *Indigofera zollingeriana* (Iz) + 5% molases.
- (4) 100% pelepah kelapa sawit (PKS) + 40% *Indigofera zollingeriana* (Iz) + 5% molases.
- (5) 100% pelepah kelapa sawit (PKS) + 60% *Indigofera zollingeriana* (Iz) + 5% molases.

### 3.4. Parameter yang Diukur

Parameter yang diukur dalam penelitian nilai nutrisi silase pelepah kelapa sawit yang ditambah biomassa *I. zollingeriana* meliputi kadar: (1) Bahan kering (%); (2) Protein kasar (%); (3) Serat kasar (%); (4) Lemak kasar (%); (5) Abu (%) dan (6) Bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) (%).

### 3.5. Prosedur Penelitian

#### 1. Persiapan bahan penelitian

##### (a) Pelepah kelapa sawit dan *Indigofera zollingeriana*

Pelepah sawit yang digunakan adalah 2/3 bagian dari pucuk dan biomassa (batang dan daun) *Indigofera zollingeriana* yang berumur 60 hari,

dikeringanginkan selama 3 jam sehingga kadar air diperkirakan berkisar 50 - 60%, kemudian pelepah kelapa sawit dan *Indigofera* dicacah dengan mesin *chopper* dengan ukuran  $\pm$  2-3 cm, setelah itu kedua bahan tersebut ditimbang sesuai dengan perlakuan.

(b) Molases

Jumlah molases yang ditambahkan adalah 5% pada masing-masing perlakuan.

2. Pencampuran bahan

Pencampuran bahan dilakukan dalam baskom plastik dengan mencampurkan pelepah kelapa sawit dan *Indigofera* sesuai perlakuan, kemudian ditambah molases 5%. Bahan diaduk hingga semua bahan tercampur homogen.

3. Pembungkusan

Bahan yang telah tercampur homogen dimasukkan ke dalam kantong plastik kedap udara dan dipadatkan sehingga mencapai keadaan *anaerob*, kemudian diikat dan dilapisi dengan plastik lagi dua lapis dan diikat selanjutnya diberi kode sesuai dengan perlakuan.

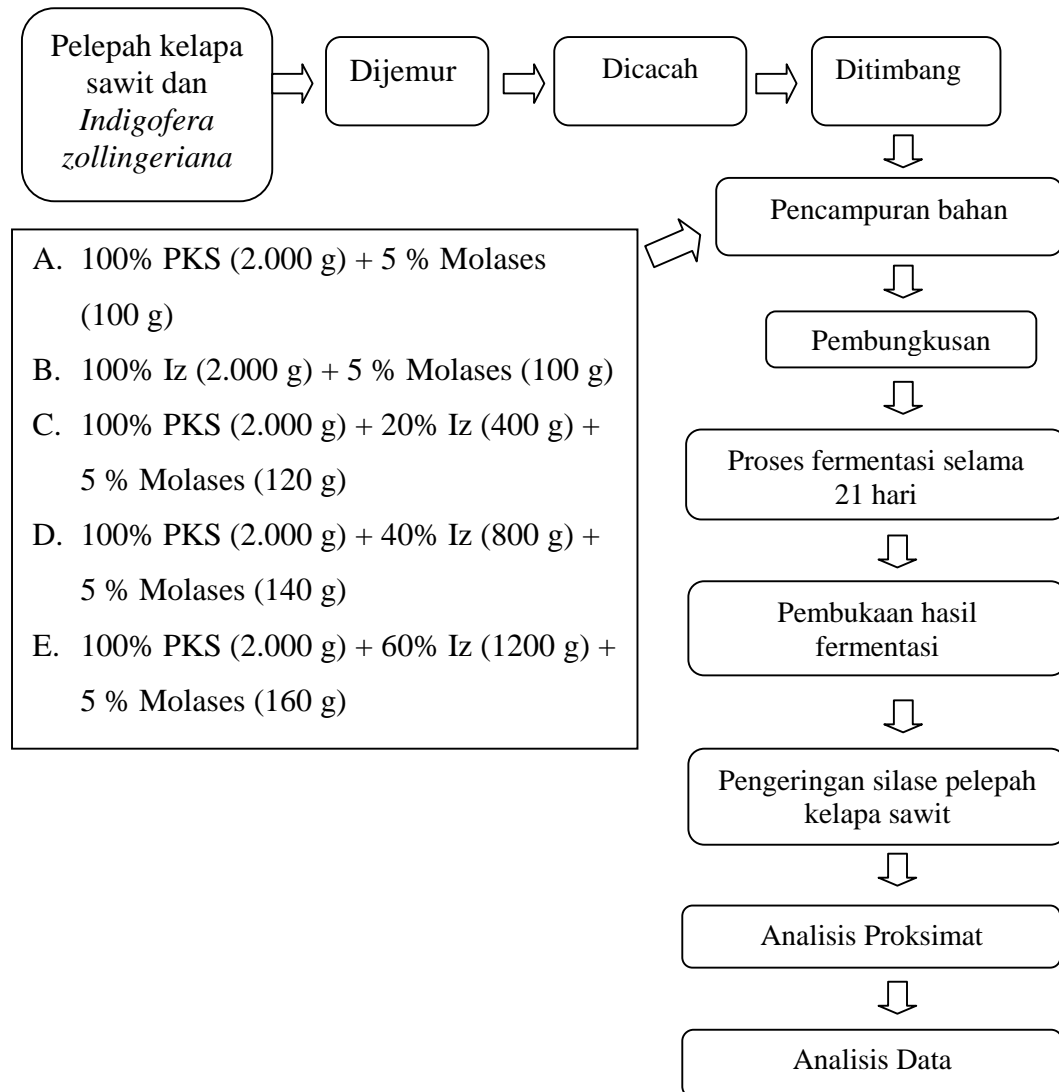
4. Tahap fermentasi

Fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 21 hari.

5. Analisis proksimat

Setelah 21 hari proses fermentasi berlangsung, sampel kemudian dibuka dan dikeringkan dengan sinar matahari. Sampel yang telah kering dianalisis proksimat (BK, PK, SK, LK, abu dan BETN) di laboratorium

Riau. Bagan prosedur penelitian disajikan pada Gambar 3.1 berikut:



Gambar 3.1. Bagan prosedur penelitian

### 3.6. Prosedur Analisis Proksimat

#### 3.6.1. Penentuan Kandungan Bahan Kering (AOAC, 1993)

Cara kerja:

1. *Crusible* yang bersih dikeringkan di dalam oven listrik pada temperatur 105°-110°C selama 1 jam.

2. *Crusible* kemudian didinginkan di dalam desikator selama 1 jam.
3. *Crusible* ditimbang dengan timbangan analitik, beratnya (X).
4. Sampel ditimbang lebih kurang 5 g (Y).
5. Sampel bersama *crusible* dikeringkan dalam oven listrik pada temperatur 105°-110°C selama 8 jam.
6. Sampel dan *crusible* didinginkan dalam desikator selama 1 jam lalu timbang dengan timbangan analitik beratnya (Z), selanjutnya cara kerja 4, 5 dan 6 dilakukan sebanyak 3 kali atau hingga beratnya konstan.

Penghitungan kadar air:

$$\% \text{ KA} = \frac{X + Y - Z}{Y} \times 100 \%$$

Keterangan:

X = Berat *crusible*

Y = Berat sampel

Z = Berat *crusible* dan sampel yang telah dikeringkan

Perhitungan penetapan bahan kering:

$$\% \text{ BK} = 100\% - \% \text{ KA}$$

Keterangan:

% KA = Kadar air bahan

### 3.6.2. Penentuan Kandungan Protein Kasar (Foss Analytical, 2003)

Cara kerja:

1. Sampel ditimbang 1 g dan dimasukkan ke dalam *digestion tubes straight*.
2. Sampel kemudian ditambahkan dengan katalis (1,5 g K<sub>3</sub>SO<sub>4</sub> dan 7,5 mg MgSO<sub>4</sub>) sebanyak 2 buah dan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebanyak 6 mL ke dalam *digestion tubes straight*.

3. Sampel didestruksi di lemari asam dengan suhu 425°C selama 4 jam sampai cairan menjadi jernih (kehijauan).
4. Sampel didinginkan, ditambahkan aquadest 30 mL secara perlahan-lahan.
5. Sampel dipindahkan ke dalam alat destilasi.
6. *Erlenmeyer* 125 mL yang berisi 25 mL larutan  $\text{H}_3\text{BO}_3$  7 mL *metilen red* dan 10 mL *brom kresol green* disiapkan. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan  $\text{H}_3\text{BO}_3$ .
7. Larutan NaOH 30 mL ditambahkan ke dalam *erlenmeyer*, kemudian didestilasi selama 5 menit.
8. Tabung kondensor dibilas dengan air dan bilasannya ditampung dalam *erlenmeyer* yang sama.
9. Sampel dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda dan selanjutnya penetapan blanko dilakukan.

Penghitungan:

$$\% \text{ N} = \frac{(\text{mL titran} - \text{mL blanko}) \times \text{Normalitas } \text{H}_2\text{SO}_4 \times 14,007}{\text{Berat sampel (mg)}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ PK} = \% \text{ N} \times \text{faktor konversi}$$

Keterangan : Faktor konversi untuk pakan ternak adalah 6, 25.

### 3.6.3. Penentuan Kandungan Serat Kasar (Foss Analytical, 2006)

Cara kerja:

1. NaOH dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ditambah aquadest menjadi 1000 mL. NaOH 1,25% (dilarutkan 12,5 g NaOH ke dalam aquadest sehingga volumenya menjadi 1000 mL) dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  96% (larutkan 13,02 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dalam aquadest sehingga volumenya menjadi 1000 mL).

2. Sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam *crusible* (yang telah ditimbang beratnya (W1)).
3. *Crusible* diletakkan pada *cold extration* lalu *aceton* dimasukkan ke dalam *crusible* sebanyak 25 mL atau sampai sampel tenggelam, kemudian diamkan selama 10 menit untuk menghilangkan lemak (lakukan 3 kali berturut-turut), selanjutnya bilas dengan aquadest sebanyak 2 kali.
4. *Crusible* dipindahkan ke *fibertec*
  - $H_2SO_4$  dimasukkan ke dalam masing-masing *crusible* pada garis ke 2 (150 mL), setelah dihidupkan kran air, *crusible* ditutup dengan *reflektor*.
  - *Fibertec* dipanaskan sampai mendidih. *Fibertec* dalam keadaan tertutup dan air dihidupkan.
  - Aquadest dipanaskan dalam wadah lain.
  - Sampel di *fibertec* mendidih lalu ditambahkan *octanol* (untuk menghilangkan buih) sebanyak 2 tetes lalu panasnya dioptimumkan dan dibiarkan selama 30 menit dan setelah 30 menit *fibertec* dimatikan.
5. Larutan di dalam *fibertec* disedot, posisi *fibertec* dalam keadaan *vacum* dan kran air dibuka.
6. Aquadest yang telah dipanaskan dimasukkan ke dalam semprotan lalu semprotkan ke *crusible*. Posisi *fibertec* tetap dalam keadaan *vacum* dan kran air terbuka (lakukan pembilasan sebanyak 3 kali).
7. *Fibertec* ditutup, NaOH yang telah dipanaskan dimasukkan ke dalam *crusible* pada garis ke 2, kran air pada posisi terbuka, *fibertec* dihidupkan

dengan suhu optimum. Sampel yang telah mendidih ditetaskan *octanol* sebanyak 2 tetes ke dalam tabung yang berbuih, kemudian dipanaskan selama 30 menit, selanjutnya matikan *fibertec* (off) kran ditutup suhu dioptimumkan, selanjutnya lakukan pembilasan dengan aquadest panas sebanyak 3 kali (*fibertec* pada posisi *vacum*) setelah selesai membilas, *fibertec* pada posisi tertutup.

8. *Crusible* dipindahkan ke *cold extraction* lalu dibilas dengan *acetone*. *Cold extraction* pada posisi *vacum*, kran air dibuka (lakukan sebanyak 3 kali) untuk pembilasan.
9. *Crusible* dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam dengan suhu 130°C.
10. *Crusible* didinginkan dalam desikator 1 jam selanjutnya ditimbang (W2).
11. *Crusible* dimasukkan ke dalam tanur selama 3 jam dengan suhu 525°C, kemudian dinginkan dalam desikator selama 1 jam dan ditimbang (W3).

$$\% \text{ SK} = \frac{W2 - W3}{W1} \times 100 \%$$

Keterangan:

W1 = Berat sampel (g)

W2 = Berat sampel + *crusible* setelah dioven (g)

W3 = Berat sampel + *crusible* setelah ditanur (g)

#### **3.6.4. Penentuan Kandungan Lemak Kasar (Foss Analytical, 2003)**

Cara kerja :

1. Sampel ditimbang sebanyak 2 g, dimasukkan ke dalam timbel dan ditutup dengan kapas (Y).



2. Timbel yang berisi sampel diletakkan pada *soxtec*, alat dihidupkan dan dipanaskan sampai suhu 135°C dan air dialirkan, timbel diletakkan pada *soxtec* pada posisi rinsing.
3. Aluminium cup selanjutnya dimasukkan (sudah ditimbang beratnya Z) yang berisi petroleum benzene 70 mL ke *soxtec*, lalu tekan *start* dan jam, *soxtec* pada posisi *boiling*, dilakukan selama 20 menit.
4. *Soxtec* kemudian ditekan pada posisi *rinsing* selama 40 menit, kemudian dilakukan *recovery* 10 menit, posisi kran pada *soxtec* dengan posisi melintang.
5. *Aluminium cup* dan lemak dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam pada suhu 135°C, lalu dimasukkan dalam desikator, setelah dingin dilakukan penimbangan (Y).

Perhitungan:

$$\% \text{ LK} = \frac{Y - Z}{X} \times 100 \%$$

Keterangan:

Z = Berat *aluminium cup* + lemak

X = Berat *aluminium cup*

Y = Berat sampel

### 3.6.5. Penentuan Kandungan Abu (AOAC, 1993)

Cara kerja:

1. *Crusible* yang bersih dimasukkan ke dalam oven pada suhu 110°C selama 1 jam.
2. *Crusible* kemudian didinginkan ke dalam desikator selama lebih kurang 1 jam, setelah *crusible* dingin ditimbang beratnya (W1).

3. Sampel ditimbang sebanyak 1 g (Y) lalu masukkan ke dalam *crusible*.
4. *Crusible* beserta sampel kemudian dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu 525°C selama 3 jam.
5. Sampel dan *crusible* dimasukkan ke dalam desikator selama 1 jam.
6. *Crusible* dingin, lalu abunya ditimbang (W3).

Penghitungan:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(W1 + W2) - W3}{W1} \times 100 \%$$

Keterangan:

W3 = Berat *crusible* + Abu

W1 = Berat *crusible*

W2 = Berat sampel

### 3.6.6. Penentuan Kadar BETN

Penentuan kadar bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) dengan cara pengurangan angka 100% dengan persen kadar protein kasar, serat kasar, lemak kasar dan abu.

$$\text{Perhitungan : } \% \text{ BETN} = 100\% - (\% \text{ PK} + \% \text{ SK} + \% \text{ LK} + \% \text{ Abu})$$

### 3.7. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang menurut rancangan acak lengkap (RAL) (Steel dan Torrie, 1991), model linier rancangan acak lengkap yaitu sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j$$

Keterangan:  $Y_{ij}$  : nilai pengamatan pada perlakuan penambahan biomassa

Indigofera ke-i, ulangan ke-j

$\mu$  :rataaan umum

$i$  : pengaruh perlakuan penambahan biomassa Indigofera ke-  $i$

$ij$  : pengaruh galat dari perlakuan penambahan biomassa Indigofera ke- $i$  ulangan ke- $j$

$i$  : 1, 2, 3, 4, 5

$j$  : 1, 2, 3, 4

Tabel 3.1. Analisis Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas (db)	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	t-1	JKP	KTP	KTP/KTG	-	-
Galat	t (r-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	tr-1	JKT	-	-	-	-

Keterangan : Faktor Koreksi (FK) =  $\frac{Y^2}{r.t}$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = Y_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \frac{Y^2}{r} - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} = \text{JKT} - \text{JKP}$$

$$\text{Jumlah Total Perlakuan (KTP)} = \frac{\text{JKP}}{t-1}$$

$$\text{Kuadrat Total Galat (KTG)} = \frac{\text{JKG}}{n-t}$$

$$\text{F hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}}$$

Bila hasil analisis ragam menunjukkan pengaruh nyata dilakukan uji lanjut

*Tukey's kramer test.*

### **3.8. Analisis Data**

Data hasil penelitian yang diperoleh diolah dengan menggunakan software komersial *StatView* (Versi 5, SAS Institute, Cary, USA, 1998). Sebelum dilakukan pengolahan data, semua data mentah (*raw data*) akan dilakukan uji *Thompson* untuk menghilangkan data *outlier* dengan menggunakan tingkat pengujian ( $P < 0,01$ ), kemudian dilanjutkan dengan analisis data. Data yang ditampilkan adalah rata-rata  $\pm$  SEM, perbedaan signifikan akan diberi lambang ( $P < 0,05$ ).